



PROSIDING
2017

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL III 2017

KEBERLAHAN, PENCELAHAN DAN LINGKUNGAN HIDUP PESERTA INTERDISIPLINER

Pengantar/Editor pelaksana:
Husnaini, S.Pd., M.Pd. (Moderator)
Fauz Lopa Miftari, S.Pd., M.Pd.
Gina Fathmawati, S.Pd., M.Pd.
Dwi Setyawan, S.Pd., M.Pd.



Universitas Muhammadiyah Malang
Fakultas Ilmu Lingkungan
Jalan Sekeloa Indah No. 1
Kampus Sekeloa Indah, Malang 64115



**TEKNOLOGI KULTUR *IN VITRO* TANAMAN UNTUK MENGHASILKAN
METABOLIT SEKUNDER & APLIKASI DI BIDANG FARMASI**
*Culture Technology In Vitro Plants to Produce Secondary Metabolites & Applications in The
Pharmaceutical*

Sutini¹⁾, Widiwurjani²⁾, Djoko Agus Purwanto³⁾, Gunawan Indrayanto⁴⁾

¹⁻² Agrotechnology Department of Agriculture Faculty UPN "Veteran" East Java.

³ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University, Surabaya.

⁴ Department of Natural Product Chemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University, Surabaya.
e-mail korespondensi: tien_basuki@yahoo.com

ABSTRAK

Metabolit sekunder merupakan salah satu senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman yang dapat diproduksi melalui teknik kultur invitro. Bioaktif hasil dari teknik kultur in vitro ini dapat diaplikasikan pada berbagai bidang industri. Tujuan teknologi kultur in vitro pada tanaman adalah untuk menghasilkan biomassa metabolit sekunder berbentuk kalus yang bersifat bioaktif. Metode yang digunakan untuk mencapai tujuan meliputi: (1) induksi kalus secara in vitro dengan menanam potongan eksplan pada media MS yang dimodifikasi dengan penambahan nutrisi dan dengan berbagai zat pengatur tumbuh, (2) induksi akumulasi metabolit sekunder kultur kalus menggunakan elisitor biotik maupun abiotik, (3) isolasi dan identifikasi metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode kromatografi lapis tipis/KLT atau High Performance Liquid Chromatography/HPLC. (4) Identifikasi enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder. (5) Hasil aplikasi metabolit sekunder di bidang farmasi

Kata Kunci: bioaktif, elisitor, kultur in vitro, metabolit sekunder

ABSTRACT

Secondary metabolites are one of the bioactive compounds found in plants that can be produced through invitro culture techniques. Bioactive results from this in vitro kultur technique can be applied to various industrial fields. The purpose of in vitro culture technology in plants is to produce biomass of secondary metabolite in the form of callus that is bioactive. The methods used to achieve the objectives include: (1) induction of callus in vitro by planting explant pieces on modified MS medium with addition of nutrients and with various growth regulators; (2) induced accumulation of secondary metabolites of callus cultures using biotic and abiotic elicitors, (3) isolation and identification of secondary metabolites qualitatively and quantitatively by thin layer chromatography / TLC or High Performance Liquid Chromatography / HPLC method. (4) Identification of key enzymes involved in the biosynthesis of secondary metabolites. (5) Result Secondary metabolite application in the pharmaceutical.

Keywords: bioactive, elicitor, in vitro culture, secondary metabolite

Metabolit sekunder merupakan salah satu senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman. Metabolit sekunder dari tanaman bercirikan tidak terlibat langsung pada pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan secara esensial tidak dibutuhkan oleh tanaman. Penggolongan jenis utama metabolit sekunder diantaranya poliketida, flavanoid, alkaloid, terpenoid (Saifudin, 2014). Potensi dari metabolit sekunder sebagai promotor peningkatan kesehatan (Argawal dan Kamal 2007), contohnya *epigallocatechin galat* sebagai bahan anti obesitas, *Trimethyl xanthina* dan saponin sebagai anti oksidan (Biswapriya dan Satyahari, 2012). Disamping untuk meningkatkan kesehatan di bidang pertanian dapat sebagai herbisida maupun fungisida alami.

Permasalahannya, untuk mendapatkan metabolit sekunder dari tanaman memerlukan waktu tunggu yang lama hingga lebih dari lima tahun untuk tanaman kategori tahunan. Untuk mencari solusi dari permasalahan ini maka metabolit sekunder diproduksi melalui teknik kultur invitro. Teknik kultur invitro memiliki beberapa

kelebihan dibanding dari metabolit yang diambil dari tanaman dari lahan. Kelebihan teknik kultur invitro diantaranya dengan areal yang sempit/ terbatas dapat menghasilkan metabolit yang besar yang dapat dikembangkan menjadi skala industri yang komersial (Sarah dan Susan 2012). Disamping itu dengan menstimulasi media sel-sel dalam kultur in vitro lebih cepat membelah hingga biomassa cepat dapat dipanen. Untuk peningkatan produksi dapat ditambah elisitor (Mukarlina *et al.*, 2006). dan untuk mempercepat biosintesis dan skala yang besar dapat ditambahkan prekursor (Deepika, 2013).

Tujuan dari penulisan naskah ini adalah untuk mempelajari produksi metabolit sekunder melalui teknik kultur invitro yang berguna dalam menghasilkan biomassa metabolit sekunder berbentuk kalus yang bersifat bioaktif yang dapat diaplikasikan pada berbagai bidang khususnya bidang farmasi.



KAJIAN PUSTAKA

Metabolit sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang terdapat dalam tanaman yang secara tidak langsung tidak terlibat dalam metabolisme tanaman termasuk tidak terlibat dalam reproduksi, pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Keberadaan metabolit sekunder pada tanaman dengan konsentrasi mikro molekul dengan kisaran berat molekul 50-1500 Dalton. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Tutut (2016) bahwa metabolit sekunder *betasianin* yang diekstraksi dari tanaman kulit buah *Hylocereus polyrhizus* dapat dikarakterisasi dan dapat dimanfaatkan untuk untuk media Atlas.

Biosintesis Metabolit sekunder

Biosintesis menyangkut identifikasi enzim yang terlibat dalam lintasan produksi metabolit sekunder. Lintasan biosintesis metabolit sekunder yang pertama adalah lintasan metabolisme dasar seperti proses glikolisis dan siklus Krebs. Lintasan biosintesis metabolit sekunder yang Kedua adalah lintasan shikimate (Magoma *et al.*, 2003). Pada lintasan ini akan terbentuk zat / pra zat yang sifatnya intermediet yang kestabilannya tergantung dari enzim yang terlibat.

Teknologi Kultur *in vitro*

Teknologi kultur *in vitro* tidak hanya digunakan untuk produksi tanaman secara masal namun dapat juga untuk produksi metabolit sekunder. Teknologi untuk produksi metabolit sekunder dimulai dengan menanam eksplan dari suatu jaringan yang dibiakkan menjadi suatu masa sel belum terdiferensiasi (kalus/ suspensi) yang berupa biomasa yang dapat dipanen untuk diisolasi metabolit sekundernya. Teknologi ini mencakup: induksi kalus, penggunaan elisitor - prekursor, pemanenan, isolasi dan identifikasi secara kuantitatif untuk mendapatkan kadar metabolit sekunder. Dengan mengetahui kadar metabolit sekunder yang telah diperoleh dapat diaplikasikan pada berbagai agroindustri.

Induksi kalus secara *in vitro* dengan menanam potongan eksplan pada media Murashige Skoog / MS yang dimodifikasi dengan penambahan nutrisi dan dengan berbagai zat pengatur tumbuh. Untuk meningkatkan pertumbuhan & hasil metabolit sekunder perlu ditambah dengan penggunaan elisitor.

Induksi kalus secara *in vitro* yang dilanjutkan dengan induksi kultur suspensi dari eksplan tanaman *Centella asiatica* (L.) Urban diperoleh metabolit sekunder asiatikosida (Soegihardjo dan Koensoemardiyah, 2004).

Penggunaan elisitor pada Kultur *in vitro* dilakukan dengan elisitor biotik maupun abiotik. Elisitor biotik digolongkan dalam elisitor endogen, dan elisitor eksogen. Elisitor endogen, berasal dari bagian tumbuhan itu sendiri, seperti bagian dari dinding sel (poligogalakturonat) yang rusak yang disebabkan oleh suatu serangan pathogen. Elisitor eksogen, seperti dari dinding jamur (kitin, atau glukukan), enzim dan protein.

Isolasi dan identifikasi metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode kromatografi lapis tipis/KLT atau High Performance Liquid Chromatography/HPLC. Cara kerjanya: kalus dihaluskan kemudian ditimbang & ditentukan kadar airnya (metode gravimetri) dan dilarutkan dalam aquades pada suhu 70-80°C didiamkan \pm 30 menit lalu disaring. Larutan dikocok pelan dengan kloroform pada corong pisah yang akan terbentuk dua lapisan bagian bawah dan bagian atas. Lapisan bagian bawah yaitu fase kloroform dan lapisan bagian atas yaitu fase air. Dari fase air yang didapat, kemudian diekstraksi dengan etil asetat terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian bawah yaitu fase air dan lapisan bagian atas yaitu fase etil asetat. Fase etil asetat ditampung dan dirotavapor, hingga diperoleh ekstrak kering, lalu ekstrak kering dilarutkan di metanol kemudian disuntikkan ke HPLC, diperoleh profil metabolit yang retensi time (RT) yang mendekati sama dengan standar Sutini *et al.*, (2016)

Aplikasi metabolit sekunder di bidang farmasi

Aplikasi metabolit sekunder di bidang farmasi seperti yang dilakukan oleh Andri *et al.*, (2016) bahwa metabolit sekunder dari seduhan rimpang *Zingiber officinale* Roscoe dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus setelah di induksi *Streptozotocin*.

PEMBAHASAN

Metabolit sekunder secara tidak langsung tidak dibutuhkan oleh tumbuhan namun metabolit ini terkandung dalam tumbuhan. Metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman dapat diproduksi melalui teknik kultur *in vitro*. Produksi metabolit sekunder golongan alkaloid *trimethyl xanthine* telah juga didapatkan melalui kultur *in vitro* kalus *Camellia sinensis* (Sutini *et al.*, 2016).

Induksi kalus secara *in vitro* dengan menanam potongan eksplan pada media MS yang dimodifikasi dengan penambahan nutrisi dan dengan berbagai zat pengatur tumbuh. Teknologi kultur *in vitro* yang dilakukan oleh Saifudin *et al.*, (2006) dapat dilakukan dengan media suspensi yang dapat mempersingkat waktu inkubasi dan menghasilkan metabolit sekunder lebih meningkat dibandingkan dengan metode induksi kalus. Penelitian yang dilakukan oleh Sutini *et al.*, (2016) penggunaan kultur *in vitro* metode suspensi dapat meningkatkan biomasa metabolit sekunder *flavan-3-ol* hingga kelipatan lima kali dibanding metode kultur kalus.

Penggunaan elisitor untuk menginduksi akumulasi metabolit sekunder kultur kalus menggunakan elisitor biotik maupun abiotik. Penelitian yang telah dilakukan Sutini *et al.*, (2008) pada kultur *in vitro* tanaman *Camellia sinensis* L bahwa penggunaan elisitor abiotik /ion logam Cu^{2+} konsentrasi 10 ppm akan meningkatkan berat basah kalus metabolit sekunder *flavan-3-ol* sebesar 81,43%.



Isolasi dan identifikasi metabolit sekunder merupakan kegiatan pasca panen kultur *in vitro* untuk mendapatkan kadar metabolit yang siap untuk diaplikasikan. Isolasi dan identifikasi metabolit sekunder seperti yang telah dilakukan oleh Grover *et al.*, (2010) dari kultur *in vitro* suspensi *Camellia sinensis* diperoleh metabolit sekunder golongan monoterpen.

Aplikasi metabolit sekunder dari kultur *in vitro* di bidang farmasi telah sering diterapkan diberbagai negara maju seperti disebutkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aplikasi metabolit sekunder

No	Metabolit sekunder kultur <i>in v</i>	Asal eksplan	Kegunaan	Pustaka
1	nerol	<i>Camellia sinensis</i>	Anti: bakteri & kanker	Grover <i>et al.</i> , (2010)
2	flavan-3-ol	<i>Camellia sinensis</i>	Anti obesitas	Sutini <i>et al.</i> , (2015)
3	Kurkumin	<i>Catharant hus roseus</i>	Anti oksidan	Saifudin, <i>et al.</i> , (2006).
4	Antosianin	<i>Euphor bia</i>	pewarna	Obembe, <i>et al.</i> , (2010).
5	Gingseng	<i>Panax ginseng</i>	suplemen	Obembe, <i>et al.</i> , (2010).
5	Rosma rinic acid	<i>Coleus blumai</i>	Anti inflamasi	Obembe, <i>et al.</i> , (2010).

PENUTUP

Kesimpulan

Biomasa metabolit sekunder berbentuk kalus yang bersifat bioaktif dapat diproduksi dengan teknologi kultur *in vitro* dengan memodifikasi medium, zat pengatur tumbuh serta mencermati jalur biosintesisnya untuk dipercepat dengan memodifikasi elisitor maupun precursor.

Saran

Dalam tekonoologi kultur *in vitro* perlu dilakukan dengan kehati-hatian, kondisi serba aseptik dan kecermatan pengukuran bahan-bahan yang dipergunakan.

UCAPAN TERIMA KSIH

Terima kasih kepada Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Ristek Dikti) yang telah mendanai Penelitian Berbasis Kompetensi TH. 2017.

DAFTAR RUJUKAN

Andri R.Y., Mahmudati N., Susetyorini E. (2016). *Steeping of Ginger (Zingiber officinale Rosce) Lowers Blood Glucose in Rat Model Type-2 Diabetes (NIDDM) as a Learning Resource*

Biology. Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia. 2(3), 258-264.

Argawal M dan Kamal R. (2007). Studies on flavonoid production using *in vitro* cultures of *Momordica charantia* L. *J. Indian Journal Biotechnology.* 6, 277-279.

Biswapriya B. M dan Satyahari D. (2012). Phytochemical Analyses and Evaluation of Antioxidant Efficacy of *in vitro* Callus Extract of East Indian Sandalwood Tree (*Santalum album* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 1 (3), 7-16.

Deepika A .A.P. (2013). Comparative analysis of total flavonoids and quercetin content *in vivo* and *In vitro* and enhancement of quercetin via precursor feeding in *inpluchea Lanceolata* oliver & hiern. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(3), 617-62.

Magoma G.N., Imbuga, M.O., Agong . S.G. (2003). Biochemical differentiation in *Camellia sinensis* and its wild relatives as revealed by isozyme and catechin patterns. *J. Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 995–1010.

Mukarlina, Rizkita R.E., Arbayah H. S. (2006). Pengaruh Pemberian Elisitor Homogenat Jamur *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp terhadap Kandungan Ajmalisin dalam Kultur Akar *Catharantus roseus* (L) G. Don. *Jurnal matematika dan sains*, 11(2), 44-49

Soegihardjo C.J. dan Koensoemardiyah. (2004). Asiaticoside and its derivative production by cell suspension cultures Of *centella asiatica* (L.) Urban. Laporan penelitian. Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta

Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik.* Yogyakarta: Deepublish.

Sutini, Tatik W, Wahyu W , S.B. Sumitro (2008). Meningkatkan produksi flavan-3-ol melalui kalus *camellia Sinensis* l. dengan elisator Cu ²⁺. *Jurnal Berk. Penel. Hayati:* 14, 39–44.

Sutini, Susilowati, Djoko Agus Purwanto. (2016). Growth and Accumulation of Flavan-3-ol in *Camellia sinensis* through Callus Culture and Suspension Culture Method. *Journal of Biological Researches.* 22(1), 27-31.

Sutini, Susilowati, Djoko Agus P, M.Rasjad Indra. (2016). The extraction process of trimethyl xanthina *in vitro* Culture of callus *C. sinensis* With ethyl acetate solvent. *J. Web of Conferences Matec* (58 01026): 1-4.

Sutini, Susilowati, M. Rasjad Indra. (2015). Pengembangan produksi flavan-3-ol melalui kultur suspensi sel *camellia sinensis* l :Untuk penghambatan diferensiasi sel adiposa. Laporan penelitian berbasis kompetensi. UPN " Veteran" Jatim.



- Tutut P.L. (2016). Characteristics analysis of dragon fruit extract betacyanin of *hylocereus polyrhizus* and *hylocereus undatus* with Stability organoleptic jelly as atlas media. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia* 2(1), 78-87.
- Grover A., Jayashankar S., Yadav R.B. (2012). Production of monoterpenoids and aroma compounds from cell suspension cultures of *C. Sinensis*. *J. Plant Cell Tiss organ Culture*. 108, (2), 323-331.
- Saifudin, A. Suparti , Fuad A. (2006). Biotransformation curcuma through the culture Of suspens leaf cell *Catharanthus roseus* [1] g. Don Bloomy squeeze. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 7(2), 92 – 10.
- Sarah A. W. and Susan C. R. (2012). Recent advances towards development and commercialization of plant cell culture processes for the synthesis of biomolecules. *J. Plant Biotechnology* 10, 249–268.